



Europäisches Patentamt
European Patent Office
Office européen des brevets



Veröffentlichungsnummer: **0 567 967 A1**

EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG

(21) Anmeldenummer: **93106725.0**

(22) Anmeldetag: **26.04.93**

(51) Int. Cl.⁵: **C07D 401/12, A61K 31/395,
C07D 207/263, C07D 207/08,
C07D 233/72, C07D 233/32,
C07D 249/12, C07D 285/10,
C07D 403/06, C07D 211/34,
C07C 257/18**

(30) Priorität: **28.04.92 DE 4213930
30.04.92 DE 4214245**

(43) Veröffentlichungstag der Anmeldung:
03.11.93 Patentblatt 93/44

(64) Benannte Vertragsstaaten:
**AT BE CH DE DK ES FR GB GR IE IT LI LU NL
PT SE**

(71) Anmelder: **Dr. Karl Thomae GmbH

D-88397 Biberach(DE)**

(72) Erfinder: **Weisenberger, Johannes, Dr.
Haydnweg 5
W-7950 Biberach 1(DE)
Erfinder: Schubert, Hans-Dieter
Mozartstrasse 4
W-7950 Biberach 1(DE)
Erfinder: Switek, Karl-Heinz
Schopperweg 3
W-7950 Biberach 1(DE)
Erfinder: Linz, Günter, Dr.
Erlenweg 8
W7951 Mittelbiberach(DE)
Erfinder: Himmelsbach, Frank, Dr.
Ahornweg 16
W-7951 Mittelbiberach(DE)**

(54) **Markierte Fibrinogen-Rezeptor-Antagonisten, deren Verwendung und Verfahren zur ihrer Herstellung.**

(57) Die vorliegende Erfindung betrifft neue mit einem detektierbaren Atom markierte Fibrinogen-Rezeptor-Antagonisten, die eine vergleichbare oder höhere Affinität gegenüber dem Rezeptor als ¹²⁵I-Fibrinogen besitzen und deren Bindung durch Fremdproteine nicht gestört wird, insbesondere die mit Tritium markierte Fibrinogen- und Rezeptor-Antagonisten gemäß Anspruch 3, die in Gegenwart von Fremdprotein, z.B. von Albumin oder von Fibrinogen, eine Affinität (K_D) von weniger als 500 nM gegenüber dem Rezeptor aufweisen, deren Verwendung als Liganden im Fibrinogen-Rezeptor-Bindungstest oder zur Konzentrationsbestimmung von Fibrinogen-Rezeptor-Antagonisten und Verfahren zu ihrer Herstellung.

EP 0 567 967 A1

Im Normalfall, d.h. bei intakten Blutgefäßen, ist die Aufrechterhaltung der Fließfähigkeit des Blutes dadurch gewährleistet, daß keiner der maßgeblichen hämostatischen Mechanismen aktiviert ist. Zur Blutstillung bei Verletzungen werden folgende zwei Prozesse eingeleitet:

1. Die unmittelbar an der Gefäßläsion innerhalb von Sekunden einsetzende Thrombozytenaggregation, welche durch den sich bildenden Thrombus die Blutstillung initiiert, und
2. die etwas später eintretende Gerinnung, welche den Thrombus durch Bildung von Fibrinfäden stabilisiert.

Die Aggregation und die Gerinnung können nun auch bei nicht verletzten, aber etwa durch atherosklerotische Plaques veränderten Gefäßwänden auftreten und verursachen so lebensbedrohende Krankheiten wie Herzinfarkt, Lungenembolie und Gehirnschlag.

Eine logisch erscheinende Präventivmaßnahme wäre in diesen Fällen die Verhinderung der initialen Thrombusbildung. Verschiedene Pharmazeutika, welche einzelne Wege der Thrombozytenaggregation hemmen, wurden bisher ohne durchschlagenden Erfolg hierfür eingesetzt. Die gemeinsame Endstufe aller Aktivierungswege ist die Bildung des Thrombus, welcher nach neuesten Erkenntnissen dadurch entsteht, daß Thrombozyten über die an ihrer Membran vorhandenen Fibrinogenrezeptoren durch das bifunktionale, fadenförmige Fibrinogen zusammengehalten werden. Wenn es gelänge, diesen Vorgang zu unterbinden, könnte die Thrombusbildung - unabhängig von der Art der Aktivierung - gehemmt werden (siehe Cahill, M. et al. in Brit. J. Clin. Pharmacol. 33, 3-9 (1992)).

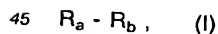
Zur Suche nach Fibrinogen-Rezeptor-Antagonisten, welche den Fibrinogen-Rezeptor blockieren und somit die Bindung des Fibrinogens an die Thrombozyten hemmen, wird eine Methode benötigt, um diese Bindung quantitativ bestimmen zu können. Eine Standardmethode ist die Verwendung von 125 J-Fibrinogen und die Trennung von zellgebundenem und gelöstem Fibrinogen durch Zentrifugation. Dieses Verfahren hat folgende gravierende Nachteile:

1. Das verwendete Nukleotid ist ein γ -Strahler
2. Die Halbwertszeit beträgt nur 60 Tage
3. Fibrinogen ist ein adhäsives Protein
4. Die Bindung ist nicht vollständig reversibel
5. Die Methode ist nicht anwendbar in Gegenwart von Plasma
6. Die Thrombozyten müssen aktiviert werden

Für den praktischen Einsatz sind die Punkte 4 und 6 nicht sehr wichtig. Die Punkte 1 bis 3 bedingen jedoch umfangreiche Abschirmmaßnahmen, erschweren die Vorratshaltung bzw. bedingen Materialverluste und lassen die Verwendung von Pipettierautomaten als kritisch erscheinen. Der größte Nachteil ist jedoch, daß die Methode in Gegenwart von Plasma infolge des hohen Fibrinogengehalts nicht anwendbar ist, da Plasma-Fibrinogen die Bindung von 125 J-Fibrinogen an aktivierte Plättchen mit einer IC_{50} von 120 nM hemmt. Zur Messung der Bindung müssen daher gewaschene bzw. gefilterte Thrombozyten verwendet werden (siehe Harfenist, E.J. et al. in Blood 71, 132-136 (1988)).

Überraschenderweise wurde nun gefunden, daß es Fibrinogen-Rezeptor-Antagonistengibt, die auch in Gegenwart von Plasma-Fibrinogen an den Fibrinogen-Rezeptor binden. Derartige Fibrinogen-Rezeptor-Antagonisten werden beispielsweise in der EP-A-0,372,486 und in der EP-A-0,381,033 sowie in den nicht vorveröffentlichten deutschen bzw. europäischen Offenlegungsschriften EP-A-0 483 667 (Gase 5/1054), EP-A-0 496 378 (Case 5/1056), EP-A-0 503 548 (Gase 5/1068), EP-A-0 525 629 (Gase 5/1074), EP-A-0 528 369 (Gase 5/1075), DE-A-41 29 603 (Gase 5/1076) und DE-A-41 34 467 (Gase 5/1077) beschrieben.

Bevorzugte Fibrinogen-Rezeptor-Antagonisten sind die Amidine der allgemeinen Formel



in der

R_a eine 4-Amidinophenyl- oder 5-Amidino-pyrimid-2-yl-Gruppe und

R_b eine $HOOC-D-C-B-A$ -Gruppe bedeuten, in der

- A eine gegebenenfalls durch eine Methoxygruppe substituierte Phenylengruppe, in der zusätzlich eine oder zwei Methingruppen jeweils durch ein Stickstoffatom ersetzt sein können, eine gegebenenfalls an einem Kohlenstoffatom durch eine Methyl-, Ethyl- oder Trifluormethylgruppe substituierte Imidazolinon-di-yl-, Imidazolidinon-di-yl-, Imidazolidin-dion-di-yl-, Triazolinon-di-yl- oder 1,1-Dioxo-1,2,5-thiadiazolidin-di-yl-gruppe, eine gegebenenfalls an einem der Stickstoffatome durch den Rest R_1 substituierte Benzimidazol-di-yl-gruppe oder eine mit dem Stickstoffatom an den Rest B gebundene Aminocarbonylgruppe,
- B eine Methylene-, Carbonyl-, Cyclohexylen-, Phenyl- oder Imidazol-di-yl-gruppe, eine über das Stickstoffatom an den Rest C gebundene Aminocarbonylgruppe, welche gleichzeitig am Stickstoffatom

durch eine Methylgruppe substituiert sein kann, oder eine über das Sauerstoffatom an den Rest A gebundene Methylenoxygruppe,

C eine gegebenenfalls durch den Rest R₂ substituierte Ethylengruppe, eine Cyclohexylengruppe, eine gegebenenfalls am Stickstoffatom durch den Rest R₃ substituierte Pyrrolidin-di-yl- oder Pyrrolidinon-di-yl-gruppe, eine Piperidin-di-yl-gruppe oder eine mit dem Stickstoffatom an den Rest D gebundene Aminocarbonylgruppe und

D eine Bindung, eine Methylen- oder Ethylengruppe darstellen, wobei

R₁ eine Methyl-, 2-Piperazinoethyl-, 2-(3,4-Dimethoxyphenyl)ethyl- oder 3-Thiomorpholinopropylgruppe,

R₂ eine Amino- oder Hydroxygruppe und

R₃ eine 3-Phenylpropyl-, Acetyl-, Methansulfonyl- oder Pyrrolidinocarbonylmethylgruppe darstellen, insbesondere diejenigen Fibrinogen-Rezeptor-Antagonisten, in denen

R_a eine 4-Amidino-phenylgruppe oder auch, wenn R_b eine in 4-Stellung durch eine 3-Carboxymethyl-pyrrolidin-2-on-5-yl-methyloxygruppe substituierte Phenylgruppe darstellt, eine 5-Amidino-pyrimid-2-yl-Gruppe und

R_b eine Phenylgruppe, die in 4-Stellung durch eine 4-Carboxymethyl-pyrrolidin-2-yl-methyloxy-, 3-Carboxymethyl-pyrrolidin-2-on-5-yl-methyloxy-, 4-Carboxymethyl-piperidinomethyl-, 4-Carboxymethyl-piperidinocarbonyl-, 4-Carboxycyclohexylaminocarbonyl- oder N-Methyl-N-(4-carboxycyclohexyl)-aminocarbonylgruppe substituiert ist, wobei jeweils in 1-Stellung der Pyrrolidinteil durch eine Acetyl- oder Methansulfonylgruppe und der Pyrrolidinonteil durch eine 3-Phenylpropyl- oder Pyrrolidinocarbonylmethylgruppe

substituiert sein kann,

eine 4-Methoxy-phenylgruppe, die in 3-Stellung durch eine 4-Carboxycyclohexyl-aminocarbonylgruppe substituiert ist,

eine in 6-Stellung durch eine Imidazol-1-yl-Gruppe substituierte Pyridazin-3-yl-Gruppe, wobei der Imidazolylteil in 4-Stellung durch eine 2-Amino-2-carboxy-ethyl- oder 2-Carboxy-2-hydroxy-ethylgruppe substituiert

ist, eine Imidazolidin-2-on-1-yl-Gruppe, die in 3-Stellung durch eine 4-(2-Carboxyethyl)-cyclohexyl- oder 4-(2-Carboxyethyl)-phenylgruppe substituiert ist,

eine 4-Methyl-4-imidazolin-2-on-1-yl- oder Imidazolidin-2,4-dion-1-yl-Gruppe, die in 3-Stellung durch eine 4-(2-Carboxy-ethyl)-phenyl-Gruppe substituiert ist,

eine gegebenenfalls in 5-Stellung durch eine Methyl- oder Ethylgruppe substituierte 1,2,4-Triazol-5-in-3-on-2-yl-Gruppe, die in 4-Stellung durch eine 4-(2-Carboxyethyl)-phenylgruppe substituiert ist,

eine 1,2,4-Triazol-5-in-3-on-4-yl-Gruppe, die in 2-Stellung durch eine 4-(2-Carboxyethyl)-phenyl-Gruppe substituiert ist,

eine in 5-Stellung durch eine 4-(2-Carboxyethyl)-phenylgruppe substituierte 1,1-Dioxo-1,2,5-thiadiazolidin-2-yl-Gruppe,

eine gegebenenfalls in 1-Stellung durch eine Methyl-, 2-Piperazino-ethyl- oder 2-(3,4-Dimethoxyphenyl)-ethylgruppe substituierte Benzimidazol-2-yl-Gruppe, die in 5-Stellung durch eine 2-Carboxyethylaminocarbonylgruppe substituiert ist, oder

eine Phenylaminocarbonylgruppe, die in 3-Stellung durch eine 2-Carboxyethylaminocarbonylgruppe substituiert ist, bedeuten,

deren Tautomere, deren Stereoisomere einschließlich deren Gemische und deren Salze.

Besonders bevorzugt sind jedoch diejenigen Verbindungen der obigen allgemeinen Formel I, welche eine gute in vitro-Wirkung im Collagen-induzierten Aggregationstest aufweisen, wobei die erfindungsgemäßen mit Tritium markierten Fibrinogen-Rezeptor-Antagonisten in diesem Test (siehe Huang, E.M. und Detwiler, T.C.: "Stimulus-Response Coupling Mechanisms" in Biochemistry of Platelets, Academic Press, Orlando, Florida 1986, Seiten 1-68) eine EC₅₀-Wirkung von weniger als 500 nM aufweisen, insbesondere jedoch die Verbindungen

(1) (3S,5S)- und (3R,5R)-5-[[4-(5-Amidinopyrimid-2-yl)-phenyl]-oxymethyl]-3-carboxymethyl-pyrrolidin-2-on,

(2) (3S,5S)- und (3R,5R)-1-Acetyl-5-[(4'-amidino-4-biphenyl-yl)-oxymethyl]-3-carboxymethyl-pyrrolidin,

(3) (3S,5S)- und (3R,5R)-5-[(4'-Amidino-4-biphenyl)-oxymethyl]-3-carboxymethyl-1-methansulfonyl-pyrrolidin,

(4) (3S,5S)- und (3R,5R)-5-[(4'-Amidino-4-biphenyl)-oxymethyl]-3-carboxymethyl-pyrrolidin-2-on,

(5) 4-Amidino-4'-[(trans-4-carboxycyclohexyl)-aminocarbonyl]-biphenyl,

(6) 4-Amidino-4'-[N-(trans-4-carboxycyclohexyl)-N-methylaminocarbonyl]-biphenyl,

(7) 1-(4-Amidinophenyl)-3-[4-(2-carboxyethyl)-phenyl]-imidazolidin-2,4-dion,

(8) 1-(4-Amidinophenyl)-3-[4-(2-carboxyethyl)-phenyl]-4-methyl-4-imidazolin-2-on,

(9) 2-(4-Amidinophenyl)-4-[4-(2-carboxyethyl)-phenyl]-1,2,4-triazol-5-in-3-on,

- (10) 4-(4-Amidinophenyl)-2-[4-(2-carboxyethyl)-phenyl]-1,2,4-triazol-5-in-3-on,
 (11) 2-(4-Amidinophenyl)-4-[4-(2-carboxyethyl)-phenyl]-5-methyl-1,2,4-triazol-5-in-3-on,
 (12) 2-(4-Amidinophenyl)-4-[4-(2-carboxyethyl)-phenyl]-5-ethyl-1,2,4-triazol-5-in-3-on,
 (13) 2-(4-Amidinophenyl)-5-[4-(2-carboxyethyl)-phenyl]-1,2,5-thiadiazolidin-1,1-dioxid,
 5 (14) 1-(4-Amidinophenyl)-3-[4-(2-carboxyethyl)-cyclohexyl]-imidazolidin-2-on,
 (15) 2-(4-Amidinophenyl)-5-[(2-carboxyethyl)-aminocarbonyl]-1-[2-(piperazin-1-yl)-ethyl]-benzimidazol,
 (16) 4-Amidino-4'-[4-(carboxymethyl)-piperidinocarbonyl]-biphenyl und
 deren Salze.

Ganz besonders bevorzugte Verbindungen sind

- 10 (1) (3S,5S)- und (3R,5R)-5-[[4-(5-Amidinopyrimid-2-yl)-phenyl]-oxymethyl]-3-carboxymethyl-pyrrolidin-2-on,
 (2) (3S,5S)- und (3R,5R)-1-Acetyl-5-[(4'-amidino-4-biphenyl-yl)-oxymethyl]-3-carboxymethyl-pyrrolidin,
 (3) (3S,5S)- und (3R,5R)-5-[(4'-Amidino-4-biphenyl-yl)-oxymethyl]-3-carboxymethyl-1-methansulfonyl-pyrrolidin,
 15 (4) (3S,5S)- und (3R,5R)-5-[(4'-Amidino-4-biphenyl-yl)-oxymethyl]-3-carboxymethyl-pyrrolidin-2-on,
 (5) 4-Amidino-4'-[4-(carboxymethyl)-piperidinocarbonyl]-biphenyl und
 deren Salze.

Die vorstehend erwähnten Fibrinogen-Rezeptor-Antagonisten der allgemeinen Formel I weisen eine vergleichbare oder höhere Affinität gegenüber dem Rezeptor als ^{125}J -Fibrinogen auf. Ihre Bindung an den
 20 Rezeptor wird durch Fremdproteine nicht gestört. Sie können daher, wenn in ihnen mindestens ein Atom durch ein detektierbares Atom, z. B. ein Wasserstoffatom durch ein Tritiumatom ersetzt ist, als Liganden im Fibrinogen-Rezeptor-Bindungstest auch in Gegenwart von Plasma eingesetzt werden.

Gegenstand der vorliegenden Erfindung sind somit die neuen mit Tritium markierten Fibrinogen-Rezeptor-Antagonisten, die eine vergleichbare oder höhere Affinität gegenüber dem Rezeptor wie ^{125}J -
 25 Fibrinogen besitzen und deren Bindung durch Fremdproteine nicht gestört wird, insbesondere die Verbindungen der obigen allgemeinen Formel I, die in Gegenwart von Fremdprotein, z.B. von Albumin oder von Fibrinogen, eine Affinität (K_D) von weniger als 500 nM gegenüber dem Rezeptor aufweisen, deren Verwendung als Liganden

- a) zur Bestimmung der Bindung von chemischen Substanzen an Fibrinogen-Rezeptoren und
 30 b) zur Konzentrationsbestimmung von Fibrinogen-Rezeptor-Antagonisten
 jeweils insbesondere in Gegenwart von Fremdeiweiß und/oder in unterschiedlichen Körperflüssigkeiten wie Blutplasma oder Urin und Verfahren zu ihrer Herstellung.

Der erfindungsgemäße Fibrinogen-Rezeptor-Bindungstest wurde beispielsweise unter Verwendung von
 (3S,5S)-5-[(4'-Amidino-4-biphenyl-yl)-oxymethyl]-3-carboxymethyl-pyrrolidin-2-on-[3- ^3H -4-biphenyl-yl) [= ^3H -
 35 BIBU 52 ZW] als Ligand wie folgt durchgeführt:

Eine Suspension von Humanthrombozyten in Plasma wird mit ^3H -BIBU 52 und verschiedenen Konzentrationen der zu testenden Substanz inkubiert. Der freie und gebundene Ligand wird durch Zentrifugation getrennt und durch Szintillationszählung quantitativ bestimmt. Aus den Meßwerten wird die Hemmung der ^3H -BIBU 52-Bindung durch die Testsubstanz bestimmt.

40 Um beispielsweise die Konkurrenz der Bindung von ^3H -BIBU 52 durch nichtmarkiertes BIBU 52 zu messen, wird aus einer Antikubitalvene Spenderblut entnommen und mit Trinatriumzitrat antikoaguliert (Endkonzentration 13 mM). Das Blut wird 10 Minuten bei 170 x g zentrifugiert und das überstehende plättchenreiche Plasma (PRP) abgenommen. Das Restblut wird zur Gewinnung von Plasma noch einmal scharf abzentrifugiert. Das PRP wird mit autologem Plasma 1:10 verdünnt. 750 μl werden mit 50 μl
 45 physiologischer Kochsalzlösung, 100 μl Testsubstanzlösung, 50 μl ^{14}C -Sucrose und 50 μl ^3H -BIBU 52 bei Raumtemperatur 20 Minuten inkubiert. Zur Messung der unspezifischen Bindung wird anstelle der Testsubstanz 30 μM BIBU 52 eingesetzt. Die Proben werden 20 Sekunden bei 10000 x g zentrifugiert und der Überstand abgezogen. 100 μl hiervon werden zur Bestimmung des freien Liganden gemessen. Das Pellet
 50 wird in 500 μl 0.2N NaOH gelöst, 450 μl werden mit 25 μl 5N HCl versetzt und gemessen. Das im Pellet noch verbliebene Restplasma wird aus dem ^{14}C -Gehalt bestimmt, der gebundene Ligand aus der ^3H -Messung. Nach Abzug der unspezifischen Bindung wird die Pelletaktivität gegen die Konzentration der Testsubstanz aufgetragen (siehe Abbildung 1) und die Konzentration für eine 50%ige Hemmung der Bindung ermittelt.

Die neuen mit Tritium markierten Fibrinogen-Rezeptor-Antagonisten erhält man nach literaturbekannten
 55 Verfahren, z. B.

- a) durch katalytische Tritiierung einer ungesättigten Kohlenstoff-Kohlenstoff-Bindung mit Tritium,
 b) durch hydrogenolytischen Austausch eines Halogenatoms, z. B. eines Chlor-, Brom- oder Jodatoms, gegen Tritium,

- c) durch katalytischen Wasserstoff/Tritiumaustausch mit Tritium,
- d) durch katalytischen Wasserstoff/Tritiumaustausch in tritiierten Lösungsmitteln oder
- e) durch Tritiierung einer Vorstufe des herzustellenden Fibrinogen-Rezeptor-Antagonisten und anschließende Synthese des Fibrinogen-Rezeptor-Antagonisten.

Das Verfahren a) wird zweckmäßigerweise in einem Lösungsmittel wie Methanol oder Ethanol, vorzugsweise jedoch in einem unpolaren Lösungsmittel wie Cyclohexan, Dioxan, Tetrahydrofuran, Ethylacetat oder Dimethylsulfoxid in Gegenwart eines geeigneten Katalysators wie Palladium/Aktivkohle, Palladiummohr, Platin/Aktivkohle, Raney-Nickel oder Gemischen aus Platin und Rhodium, Ruthenium, Osmium oder Iridium auf Aktivkohle mit Tritiumgas zweckmäßigerweise bei Raumtemperatur und unter Normaldruck bis zum Stillstand der Gasaufnahme durchgeführt. Anschließend wird zur Entfernung des labilen Tritiums vom Katalysator abfiltriert, das Lösungsmittel abgezogen, der Rückstand in einem polaren Lösungsmittel aufgenommen, 10 Minuten zum Rückfluß erhitzt und nach 12 Stunden bei Raumtemperatur das Lösungsmittel erneut abgezogen.

Das Verfahren b) wird vorzugsweise in einem geeigneten Lösungsmittel wie Wasser, Methanol, Ethanol, Dimethylformamid oder Dimethylsulfoxid, vorzugsweise jedoch in einem unpolaren Lösungsmittel wie Ethylacetat, Dioxan oder Tetrahydrofuran, in Gegenwart eines geeigneten Katalysators wie 5 % Palladium auf Aktivkohle, 10 % Palladium auf Aktivkohle, Palladium, Platin, Palladiumdichlorid, 2 % Palladium auf Bariumcarbonat, Palladium/Bariumsulfat oder Raney-Nickel unter Zusatz eines Überschusses einer basischen Komponente wie Triethylamin, Pyridin, Chinolin, Natriumhydroxid, Kaliumcarbonat, Ammoniak, Magnesiumoxid oder Kalziumoxid mit Tritiumgas bei 1 bis 5 bar und bei 20 bis 50 °C, vorzugsweise bei 25 °C, durchgeführt. Anschließend wird zur Entfernung des labilen Tritiums vom Katalysator abfiltriert, das Lösungsmittel abgezogen, der Rückstand in einem polaren Lösungsmittel aufgenommen, 10 Minuten zum Rückfluß erhitzt und nach 12 Stunden bei Raumtemperatur des Lösungsmittel erneut abgezogen.

Das Verfahren c) wird vorzugsweise in einem geeigneten Lösungsmittel wie Phosphat-Puffer pH 7, Wasser, Eisessig, Methanol oder Ethanol in Gegenwart eines geeigneten Katalysators wie Palladiumdioxid/Bariumsulfat, Platin, Palladium, 5 % Palladium auf Aktivkohle, 10 % Palladium auf Aktivkohle, Platindioxidhydrat oder Palladium/Platindioxidhydrat mittels Rühren unter trägerfreiem Tritiumgas innerhalb von einer Stunde bis 20 Tage bei 20 bis 50 °C, vorzugsweise bei 25 °C, durchgeführt. Anschließend wird zur Entfernung des labilen Tritiums vom Katalysator abfiltriert, das Lösungsmittel abgezogen, der Rückstand in einem polaren Lösungsmittel aufgenommen, 10 Minuten zum Rückfluß erhitzt und nach 12 Stunden bei Raumtemperatur des Lösungsmittel erneut abgezogen und das so erhaltene Produkt mit Hilfe der HPLC gereinigt.

Das Verfahren d) wird in einem geeigneten tritiierten Lösungsmittel wie HTO, 70%igem CH₃COOT, CF₃COOT, KOH/HTO, Dioxan/HTO, HTSO₄/HTO/Wasser, CH₃OT oder CH₃CH₂OT in Gegenwart eines geeigneten Katalysators wie Platindioxid, 5 % Palladium auf Aktivkohle, 10 % Palladium auf Aktivkohle, Palladium, Platin oder Raney-Nickel durch Erwärmen in einem geschlossenen Gefäß für ein bis 20 Stunden auf 100 bis 140 °C durchgeführt. Anschließend wird zur Entfernung des labilen Tritiums vom Katalysator abfiltriert, das Lösungsmittel abgezogen, der Rückstand in einem polaren Lösungsmittel aufgenommen, 10 Minuten zum Rückfluß erhitzt und nach 12 Stunden bei Raumtemperatur des Lösungsmittel wieder abgezogen und das so erhaltene Produkt mit Hilfe der HPLC gereinigt.

Die Vorstufen zur Herstellung tritiierten Fibrinogen-Rezeptor-Antagonisten nach dem Verfahren e) werden nach üblichen chemischen Methoden hergestellt, wobei jeweils die erforderliche markierte Zwischenstufe nach den Verfahren a) bis d), vorzugsweise jedoch nach Verfahren a), hergestellt wird.

Bei den vorstehend beschriebenen Umsetzungen ist es besonders vorteilhaft anstelle der freien Carbonsäure jeweils deren Ester mit einem niederen Alkohol, z.B. deren Methyl-, Ethyl-, n-Propyl-, Isopropyl- oder tert. Butylester, insbesondere den Methylester einzusetzen. Nach der Tritiierung wird dann der Ester mittels Hydrolyse, vorzugsweise in Gegenwart einer Base wie Natronlauge, z. B. in Gegenwart von Methanol/2N Natronlauge (6:1) bei Raumtemperatur, in die entsprechende freie Carbonsäure übergeführt.

Besonders vorteilhaft erhält man die Verbindungen

[³H] 1-(4-Amidinophenyl)-3-[4-(2-carboxyethyl)-cyclohexyl]-imidazolidin-2-on, ausgehend von 1-(4-Amidinophenyl)-3-[4-(2-carboxyethyl)-cyclohexyl]-4-imidazolin-2-on,

[³H] 1-(4-Amidinophenyl)-3-[4-(2-carboxyethyl)-phenyl]-imidazolidin-2,4-dion, ausgehend von 1-(4-Amidinophenyl)-3-[4-(2-carboxyethyl)-phenyl]-imidazolidin-2,4-dion und

[³H] 2-(4-Amidinophenyl)-5-[4-(2-carboxyethyl)-phenyl]-1,2,5-thiadiazolidin-1,1-dioxid, ausgehend von 2-(4-Amidinophenyl)-5-[4-(2-carboxyethyl)-phenyl]-1,2,5-thiadiazol-1,1-dioxid,

durch katalytische Hydrierung gemäß Verfahren a) in Methanol oder Dimethylsulfoxid mit Tritiumgas unter Verwendung von 10 % Palladium auf Aktivkohle als Katalysator, die Verbindungen

[³H] (3S,5S)- und (3R,5R)-5-[[4-(5-Amidinopyrimid-2-yl)-phenyl]-oxymethyl]-3-carboxymethyl-pyrrolidin-2-on,

[³H] (3S,5S)- und (3R,5R)-1-Acetyl-5-[(4'-amidino-4-biphenyl)-oxymethyl]-3-carboxymethyl-pyrrolidin,

[³H] (3S,5S)- und (3R,5R)-5-[(4'-Amidino-4-biphenyl)-oxymethyl]-3-carboxymethyl-1-methansulfonyl-pyrrolidin,

[³H] (3S,5S)- und (3R,5R)-5-[(4'-Amidino-4-biphenyl)-oxymethyl]-3-carboxymethyl-pyrrolidin-2-on,

[³H] 4-Amidino-4'-[(trans-4-carboxycyclohexyl)-aminocarbonyl]-biphenyl,

[³H] 4-Amidino-4'-[N-(trans-4-carboxycyclohexyl)-N-methylaminocarbonyl]-biphenyl,

[³H] 4-Amidino-4'-[4-(carboxymethyl)-piperidinocarbonyl]-biphenyl und

[³H] 2-(4-Amidinophenyl)-5-[(2-carboxyethyl)-aminocarbonyl]-1-[2-(piperazin-1-yl)-ethyl]benzimidazol,

durch hydrogenolytischen Austausch von Halogen gegen Tritium gemäß Verfahren b) in einem geschlossenen Gefäß in Dimethylformamid unter kräftigem Rühren bei einem Umgebungsdruck von 370 GBq trägerfreiem Tritiumgas,

die Verbindungen

[³H] 4-Amidino-4'-[(trans-4-carboxycyclohexyl)-aminocarbonyl]-biphenyl,

[³H] 4-Amidino-4'-[4-(carboxymethyl)-piperidinocarbonyl]-biphenyl und

[³H] 4-Amidino-4'-[N-(trans-4-carboxycyclohexyl)-N-methylaminocarbonyl]-biphenyl

durch katalytischen Wasserstoff/Tritiumaustausch in einem tritiierten Lösungsmittel gemäß Verfahren d) durch 20-stündige Behandlung der untritiierten Verbindung in Dioxan/HTO (1:1) in Gegenwart von Platindioxid

bei 100 °C,

die Verbindungen

[³H] 1-(4-Amidinophenyl)-3-[4-(2-carboxyethyl)-phenyl]-4-methyl-4-imidazolin-2-on,

[³H] 2-(4-Amidinophenyl)-4-[4-(2-carboxyethyl)-phenyl]-1,2,4-triazol-5-in-3-on,

[³H] 4-(4-Amidinophenyl)-2-[4-(2-carboxyethyl)-phenyl]-1,2,4-triazol-5-in-3-on,

[³H] 2-(4-Amidinophenyl)-4-[4-(2-carboxyethyl)-phenyl]-5-methyl-1,2,4-triazol-5-in-3-on und

[³H] 2-(4-Amidinophenyl)-4-[4-(2-carboxyethyl)-phenyl]-5-ethyl-1,2,4-triazol-5-in-3-on,

durch Tritiierung einer Vorstufe des herzustellenden Fibrinogen-Rezeptor-Antagonisten und anschließende Synthese des Fibrinogen-Rezeptor-Antagonisten gemäß Verfahren e), vorzugsweise durch Behandlung einer

Lösung von einem entsprechend substituierten 4-Amino-zimtsäure-methylester in Ethylacetat mit 370 GBq trägerfreiem Tritiumgas in Anwesenheit von 10 % Palladium auf Aktivkohle und anschließende Umsetzung

nach bekannten Methoden zu den 1,2,4-Triazol-5-in-3-onen bzw. 4-Imidazolin-2-onen,

wobei die so bevorzugt erhaltenen Methylester anschließend bei Raumtemperatur mit Methanol/2N Natronlauge hydrolysiert werden.

Die Verbindungen (3S,5S)-5-[(4'-Amidino-4-biphenyl)-oxymethyl]-3-carboxymethyl-pyrrolidin-2-on[3-³H-4-biphenyl] und

(3R,5R)-5-[(4'-Amidino-4-biphenyl)-oxymethyl]-3-carboxymethyl-pyrrolidin-2-on[3-³H-4-biphenyl] erhält man vorzugsweise gemäß Verfahren b) durch hydrogenolytischen Austausch eines Halogenatoms in 3-Stellung des Biphenylkerns, zweckmäßigerweise des Bromatoms.

Die nachfolgenden Beispiele sollen die Erfindung näher erläutern:

Herstellung der Ausgangsverbindungen:

Beispiel A

3-Brom-4'-cyano-4-hydroxybiphenyl

3,9 g 4'-Cyano-4-hydroxybiphenyl werden in 250 ml Chloroform bei Siedehitze gelöst. Zu dieser Lösung wird unter weiterem Rückflußkochen 1 ml Brom in 20 ml Chloroform getropft. Die farblose Lösung wird abgekühlt und eingedampft.

Ausbeute: 5,48 g (100 % der Theorie),

Schmelzpunkt: 186-189 °C

R_f-Wert: 0,66 (Kieselgel; 1,2-Dichlorethan/Essigester = 9:1)

Ber.:	C	56,96	H	2,94	N	5,11	Br	29,15
Gef.:		57,07		3,15		5,03		29,14

Beispiel B(S)-1-(Benzyloxycarbonyl)-5-[(trityloxy)methyl]-2-pyrrolidinon

5 Eine Lösung von 160 g (S)-5-[(Trityloxy)methyl]-2-pyrrolidinon in 1600 ml trockenem Tetrahydrofuran wird innerhalb von 35 Minuten bei -65 °C mit 179 ml einer 2,5-molaren Lösung von Butyllithium in Hexan versetzt. Nach 10 Minuten wird bei -65 °C eine Lösung von 66,8 ml Chlorameisensäure-benzylester in 100 ml trockenem Tetrahydrofuran zugetropft und eine Stunde gerührt. Dann wird mit 200 ml gesättigter Kochsalzlösung versetzt und das Tetrahydrofuran abrotiert. Der Rückstand wird zwischen 3,5 l Essigester und 200 ml Wasser verteilt, die organische Phase abgetrennt und je zweimal mit Wasser und Kochsalzlösung gewaschen. Die organische Phase wird abgetrennt, getrocknet und einrotiert. Das Rohprodukt wird aus wenig Ethanol umkristallisiert.

Ausbeute: 181 g (82 % der Theorie),

Schmelzpunkt: 103-105 °C

15 R_f-Wert: 0,53 (Kieselgel; Cyclohexan/Essigester = 2:1)

Ber.:	C	78,19	H	5,95	N	2,85
Gef.:		78,34		6,00		3,10

20

Beispiel C(3S,5S)-1-(Benzyloxycarbonyl)-3-[(methoxycarbonyl)methyl]-5-[(trityloxy)methyl]-2-pyrrolidinon

25

Zu einer Lösung von 40,0 g (S)-1-(Benzyloxycarbonyl)-5-[(trityloxy)methyl]-2-pyrrolidinon in 400 ml wasserfreiem Tetrahydrofuran tropft man bei -65 °C innerhalb von 20 Minuten unter Rühren 81,3 ml einer 1-molaren Lösung von Lithiumhexamethyldisilazid in Tetrahydrofuran. Nach 10-minütigem Rühren bei dieser Temperatur tropft man innerhalb von 30 Minuten eine Lösung von 7,5 ml Bromessigsäuremethylester in 50 ml wasserfreiem Tetrahydrofuran zu. Nach weiterem 45-minütigem Rühren bei -65 °C läßt man die Reaktionslösung auf 0 °C erwärmen und gibt 20 ml gesättigte Kochsalzlösung zu. Das Lösungsmittel wird im Vakuum abgedampft und der verbleibende Rückstand in 750 ml Essigester aufgenommen. Die organische Phase wird dreimal mit Wasser und einmal mit gesättigter Kochsalzlösung extrahiert, über Magnesiumsulfat getrocknet und im Vakuum eingeeengt. Das Rohprodukt wird mit Cyclohexan/Essigester (2:1) über Kieselgel chromatographiert.

Ausbeute: 31,8 g (70 % der Theorie),

R_f-Wert: 0,54 (Kieselgel; Cyclohexan/Essigester = 2:1)

Ber.:	C	74,58	H	5,90	N	2,49
Gef.:		74,61		6,09		2,43

40

Beispiel D(3S,5S)-5-Hydroxymethyl-3-[(methoxycarbonyl)methyl]-2-pyrrolidinon

45

70,6 g (3S,5S)-1-(Benzyloxycarbonyl)-3-[(methoxycarbonyl)methyl]-5-[(trityloxy)methyl]-2-pyrrolidinon in 700 ml Methanol werden 3,5 Stunden bei 50 °C unter einem Wasserstoffdruck von 5 bar mit 7 g eines Katalysators von 10 % Palladium auf Aktivkohle hydriert. Anschließend wird der Katalysator abfiltriert und das Filtrat eingeeengt. Der Rückstand wird zweimal mit 150 ml Petrolether verrührt und die Petrolether-Phase abdekantiert. Das verbleibende Öl wird mit Methylenchlorid/Methanol (10:1) über Kieselgel chromatographiert.

Ausbeute: 17,0 g gelbliches Öl (73 % der Theorie),

55 R_f-Wert: 0,36 (Kieselgel; Methylenchlorid/Methanol = 10:1)

Beispiel E(3S,5S)-5-[(Methansulfonyloxy)methyl]-3-[(methoxycarbonyl)-methyl]-2-pyrrolidinon

5 Zu einer Lösung von 8,0 g (3S,5S)-5-Hydroxymethyl-3-[(methoxycarbonyl)methyl]-2-pyrrolidinon und 4,95 ml Methansulfonsäurechlorid in 100 ml Methylenchlorid tropft man bei 0 °C innerhalb von 15 Minuten eine Lösung von 9,0 ml Triethylamin in 15 ml Methylenchlorid. Man rührt eine Stunde bei 0 °C und eine weitere Stunde bei Raumtemperatur. Nach der Zugabe von 20 ml Wasser wird die organische Phase abgetrennt und zweimal mit Wasser gewaschen. Die organische Phase wird über Magnesiumsulfat getrock-

10 net und im Vakuum eingengt. Das Rohprodukt wird mit Essigester/Methanol (15:1) über Kieselgel chromatographiert und der erhaltene Feststoff aus Methyl-tert.butylether/Aceton umkristallisiert.

Ausbeute: 6,8 g (60 % der Theorie),

Schmelzpunkt: 85-87 °C

R_F-Wert: 0,42 (Kieselgel; Aceton/Petrolether = 4:1)

Ber.:	C	40,75	H	5,70	N	5,28	S	12,09
Gef.:		40,63		5,50		5,45		12,01

Beispiel F4:1-Gemisch von (3S,5S)- und (3R,5S)-5-[(3-Brom-4'-cyano-4-biphenyl)oxymethyl]-3-[(methoxycarbonyl)-methyl]-2-pyrrolidinon

25 Eine Suspension von 7,0 g 3-Brom-4'-cyano-4-hydroxy-biphenyl und 10,5 g Cäsiumcarbonat in 150 ml Dimethylformamid wird eine Stunde bei Raumtemperatur gerührt. Nach Zugabe von 7,6 g (3S,5S)-5-[(Methansulfonyloxy)methyl]-3-[(methoxycarbonyl)-methyl]-2-pyrrolidinon rührt man 2 Tage bei 55 °C. Anschließend wird das Lösungsmittel weitgehend eingedampft und der Rückstand mit Kochsalzlösung und

30 verdünnter Salzsäure versetzt. Man extrahiert die wässrige Phase mit Essigester, trocknet die organische Phase über Natriumsulfat und dampft ein. Das Rohprodukt wird mit Essigester über Kieselgel chromatogra-

phiert.

Ausbeute: 7,4 g (65 % der Theorie),

R_F-Wert: 0,51 (Kieselgel; Methylenchlorid/Methanol = 15:1)

Ber.:	C	56,90	H	4,32	N	6,32	Br	18,03
Gef.:		56,58		4,41		6,17		17,92

Beispiel G(3S,5S)-5-[(4'-Amidino-3-brom-4-biphenyl)oxymethyl]-3-[(methoxycarbonyl)methyl]-2-pyrrolidinon-hydrochlorid

45 In eine Lösung von 6,4 g des 4:1-Gemisches von (3S,5S)- und (3R,5S)-5-[(3-Brom-4'-cyano-4-biphenyl)oxymethyl]-3-[(methoxycarbonyl)methyl]-2-pyrrolidinon in 250 ml wasserfreiem Methanol leitet man bei 0 °C unter Rühren 2 Stunden Chlorwasserstoff ein. Nach 2-stündigem Rühren bei Raumtemperatur wird das Lösungsmittel im Vakuum bei einer Badtemperatur von 30 °C abgedampft. Der Rückstand wird in 250 ml

50 wasserfreiem Methanol gelöst und nach Zugabe von 20 g Ammoniumcarbonat 16 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Die Suspension wird über wenig Kieselgel filtriert und das Filtrat im Vakuum eingengt. Das Rohprodukt wird mit Methylenchlorid/Methanol/konz. Ammoniak (4:1:0,25) über Kieselgel chromatographiert. Man erhält als letzte Fraktion das isomerenreine Produkt als Hydrochlorid.

Ausbeute: 270 mg (4 % der Theorie),

55 R_F-Wert: 0,16 (Kieselgel; Methylenchlorid/Methanol/konz. Ammoniak = 4:1:0,25)

Beispiel H

(3S,5S)-5-[[4-(5-Amidino-2-pyridyl)phenyl]oxymethyl]-3-[(tert.butyloxycarbonyl)methyl]-2-pyrrolidinon-hydrochlorid

5

2,1 g (3S,5S)-3-[(tert.Butyloxycarbonyl)methyl]-5-[[4-(5-cyano-2-pyridyl)phenyl]oxymethyl]-2-pyrrolidinon in 50 ml trockenem Methanol werden mit 8,5 ml 0,13 M Natriummethylat-Lösung 40 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Es werden 63 µl Eisessig und dann 0,5 g Ammoniumchlorid zugegeben und 2 1/2 Tage bei Raumtemperatur gerührt. Nach dem Einengen wird durch Säulenchromatographie auf Kieselgel mit Methylenchlorid/Methanol (6:1) gereinigt.

10

Ausbeute: 1 g (42 % der Theorie),

Schmelzpunkt: 207 °C (Zers.)

R_f-Wert: 0,56 (Kieselgel; Methylenchlorid/Methanol = 4:1)

Analog wird folgende Verbindung erhalten:

15

(3S,5S)-5-[[4-(5-Amidino-2-pyrimidyl)phenyl]oxymethyl]-3-[(tert.butyloxycarbonyl)methyl]-2-pyrrolidinon-hydrochlorid

Schmelzpunkt: 277-279 °C (Zers.)

R_f-Wert: 0,38 (reversed phase Kieselgel; Methanol/5%ige wäßrige Kochsalzlösung = 6:4)

20

Beispiel I

(3S,5S)-5-[(4'-Amidino-4-biphenyl)oxymethyl]-3-[(methoxycarbonyl)methyl]-1-(3-phenylpropyl)-2-pyrrolidinon-hydrochloridsemihydrat

25

140 g (3S,5S)-5-[(4'-Cyano-4-biphenyl)oxymethyl]-3-[(methoxycarbonyl)methyl]-1-(3-phenylpropyl)-2-pyrrolidinon werden in 1100 ml Methanol gelöst und auf -20 °C abgekühlt. Man leitet bei dieser Temperatur 4 Stunden lang Salzsäuregas unter Rühren ein und rührt weitere 16 Stunden bei Raumtemperatur nach. Man dampft das Lösungsmittel im Vakuum ab, wobei das rohe Iminoester-hydrochlorid als zähes Öl zurück bleibt (172 g). Dieses Rohprodukt wird in 1500 ml Methanol gelöst und nach Zugabe von 144 g Ammoniumcarbonat 2 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Danach fügt man weitere 48 g Ammoniumcarbonat zu und rührt für weitere 1 1/2 Stunden. Das Reaktionsgemisch wird unter Rühren mit methanolischer Salzsäure auf pH 3,5 gebracht. Man engt nun im Vakuum auf etwa 800 ml ein und filtriert das ausgefallene Ammoniumchlorid ab. Das Filtrat wird nun bis zur beginnenden Kristallisation weiter eingeengt (auf etwa 350 ml). Nach beendeter Kristallisation filtriert man den Niederschlag ab und wäscht mit 75 ml eiskaltem Methanol und schließlich mit Aceton und Ether nach. Durch Einengen der Filtrate erhält man eine weitere Fraktion. Beide Kristallisate werden vereinigt und aus Methanol umkristallisiert.

30

35

Ausbeute: 128,7 g (83 % der Theorie),

Schmelzpunkt: 184-187 °C (Zers.)

40

Ber.:	C	66,11	H	6,47	N	7,71	Cl	6,50
Gef.:		65,98		6,41		7,67		6,67

Analog werden erhalten:

45

(1) (3S,5S)-5-[(4'-Amidino-4-biphenyl)oxymethyl]-3-[(methoxycarbonyl)methyl]-2-pyrrolidinon x 1,25 HCl

Schmelzpunkt: ab 141 °C (Zers.)

R_f-Wert: 0,30 (Kieselgel; Methylenchlorid/Methanol = 85:15)

50

Ber.:	C	59,07	H	5,72	N	9,84	Cl	10,38
Gef.:		58,96		5,96		9,68		10,10

(2) (3S,5S)-1-Acetyl-5-[(4'-amidino-4-biphenyl)oxymethyl]-3-[(methoxycarbonyl)methyl]-pyrrolidin-hydrochlorid

55

R_f-Wert: 0,16 (Kieselgel; Methylenchlorid/Methanol = 10:1)

Ber.:	C	61,95	H	6,33	N	9,42	Cl	7,95
Gef.:		61,76		6,31		9,11		7,84

- (3) (3R,5R)-5-[(4'-Amidino-4-biphenyl)oxymethyl]-3-[(methoxycarbonyl)methyl]-2-pyrrolidinon-hydrochlorid-semihydrat
 Schmelzpunkt: 138 °C (Zers.)
 R_f -Wert: 0,52 (reversed phase Kieselgel (RP8); Methanol/10 % wäßrige Kochsalzlösung = 6:4)

Ber.:	C	59,08	H	5,90	N	9,84	Cl	8,31
Gef.:		58,96		6,19		9,68		8,93

- (4) (3S,5S)-5-[(4'-Amidino-4-biphenyl)oxymethyl]-3-[(methoxycarbonyl)methyl]-1-[(pyrrolidin-N-carbonyl)methyl]-2-pyrrolidinon-hydrochlorid
 R_f -Wert: 0,46 (Kieselgel; Methylenchlorid/Methanol/konz. wäßriges Ammoniak = 30:10:2)
 (5) (3S,5S)-5-[(4'-Amidino-4-biphenyl)oxymethyl]-1-methansulfonyl-3-[(methoxycarbonyl)methyl]-pyrrolidin-hydrochlorid
 R_f -Wert: 0,24 (Kieselgel; Methylenchlorid/Methanol = 10:1)

Ber.:	C	54,82	H	5,85	H	8,72	Cl	7,36
Gef.:		54,68		5,82		8,47		7,20

Beispiel J

1-[6-(4-Amidino-phenyl)-3-pyridaziny]-4-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-imidazol

- Eine Mischung aus 1,1 g 1-[6-(4-Cyan-phenyl)-3-pyridaziny]-4-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-imidazol, 1500 ml absolutem Methanol und 50 ml Methylenchlorid wird unter Rühren und Eiskühlung mit trockenem Chlorwasserstoff gesättigt. Man rührt weitere 16 Stunden bei Raumtemperatur und destilliert das Lösungsmittel im Vakuum ab. Der Rückstand wird in 250 ml absolutem Methanol aufgenommen und mit 8 g Ammoniumcarbonat versetzt. Man rührt 30 Minuten bei Raumtemperatur, saugt den Niederschlag ab und dampft das Filtrat im Vakuum ein. Der Eindampfrückstand wird mit dem vorher gewonnenen Niederschlag vereinigt und säulenchromatographisch gereinigt (Elutionsmittel: Methylenchlorid/Methanol/konz. Ammoniak = 2:1:0,25).

Ausbeute: 0,36 g (31 % der Theorie),

R_f -Wert: 0,22 (Kieselgel; Methylenchlorid/Methanol/konz. Ammoniak = 2:1:0,25)

- Analog werden folgende Verbindungen erhalten:

(1) 1-[6-(4-Amidino-phenyl)-3-pyridaziny]-4-(2-hydroxy-2-methoxycarbonyl-ethyl)-imidazol

R_f -Wert: 0,17 (Kieselgel; Methylenchlorid/Methanol/konz. Ammoniak = 2:1:0,25)

(2) 1-[6-(4-Amidino-phenyl)-3-pyridaziny]-4-(2-amino-2-methoxycarbonyl-ethyl)-imidazol-tris-trifluoracetat
 Als Ausgangsprodukt dient 1-[6-(4-Cyan-phenyl)-3-pyridaziny]-4-(2-tert.butylloxycarbonylamino-2-methoxycarbonyl-ethyl)-imidazol

Die rohe freie Base wird durch Aufnehmen in Methylenchlorid, Versetzen mit Trifluoressigsäure, Einengen und Reinigen über Kieselgel (Elutionsmittel: Methylenchlorid/Methanol/konz. Ammoniak = 2:1:0,25) in das Tris-trifluoracetat überführt.

R_f -Wert: 0,18 (Kieselgel; Methylenchlorid/Methanol/konz. Ammoniak = 2:1:0,25)

Beispiel K

4-Amidino-4'-(5-methoxycarbonyl-pentyloxy)-biphenyl x 0,5 H₂CO₃

- Man überschichtet 75 ml Methanol mit 30 ml Petroläther und leitet unter Eiskühlung Chlorwasserstoffgas bis zur Sättigung ein. Man trägt nun 2,1 g 4-Cyano-4'-(5-ethoxycarbonyl-pentyloxy)-biphenyl ein und rührt 18 Stunden bei Raumtemperatur. Man engt im Vakuum zur Trockene ein, suspendiert den Rückstand in Methanol, setzt 5,36 g Ammoniumcarbonat zu und rührt 16 Stunden bei Raumtemperatur. Der erhaltene

Niederschlag wird abfiltriert und durch Verrühren mit Methylenchlorid/Methanol (85:15) und Wasser gereinigt.

Ausbeute: 1,75 g (75 %-der Theorie),

Schmelzpunkt: 185-189 °C (Zers.)

5

Ber. (x 0,5 H ₂ CO ₃):	C	66,31	H	6,74	N	7,55
Gef.:		66,75		6,85		7,41

10 Analog werden folgende Verbindungen erhalten:

(1) 4-Amidino-4'-[(4-methoxycarbonylmethyl-piperidino)-carbonyl]-biphenyl-hydrochlorid

Schmelzpunkt: 268-270 °C

(2) 4-Amidino-4'-[(4-methoxycarbonylmethyl-piperidino)-methyl]-biphenyl-hydrochlorid

Schmelzpunkt: 148-150 °C (Zers.)

15 (3) 4-Amidino-4'-[(4-methoxycarbonyl-cyclohexyl)-aminocarbonyl]-biphenyl-hydrochlorid

Schmelzpunkt: 302-305 °C (Zers.)

(4) 4-Amidino-4'-methoxy-3'-[(4-methoxycarbonyl-cyclohexyl)-aminocarbonyl]-biphenyl

R_f-Wert: 0,15 (Kieselgel; Methylenchlorid/Methanol = 9:1)

(5) 4-Amidino-4'-[N-(4-methoxycarbonyl-cyclohexyl)-N-methyl-aminocarbonyl]-biphenyl-hydrochlorid

20 Schmelzpunkt: 295-300 °C

Beispiel L

1-(4'-Amidino-4-biphenyl)-3-methoxycarbonylmethyl-imidazolidin-2-on-hydrochlorid

25

Zu 3,1 g 1-(4'-Cyano-4-biphenyl)-3-methoxycarbonylmethyl-imidazolidin-2-on gibt man 85 ml einer unter Eiskühlung gesättigten Lösung von Chlorwasserstoff in Methanol. Die entstandene Suspension wird mit Petrolether überschichtet und 3,5 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Man engt zur Trockene ein und trocknet noch 15 Minuten bei 1 mbar nach. Der Rückstand wird in 80 ml absolutem Methanol suspendiert,

30

mit 2,7 g Ammoniumcarbonat versetzt und 16 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Man filtriert vom Niederschlag ab, engt die Mutterlauge ein und reinigt den Rückstand durch Säulenchromatographie an Kieselgel (Elutionsmittel: Methylenchlorid/Methanol/konz. Ammoniak = 3:1:0,2).

Ausbeute: 0,7 g (20 % der Theorie),

Schmelzpunkt: über 200 °C

35

R_f-Wert: 0,53 (Kieselgel; Methylenchlorid/Methanol/konz. Ammoniak = 3:1:0,2)

Analog werden folgende Verbindungen erhalten:

(1) 1-(4-Amidino-phenyl)-3-[4-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-cyclohexyl]-imidazolidin-2-on-hydrochlorid

Schmelzpunkt: über 200 °C

R_f-Wert: 0,44 (Reversed Phase Platte RP8; Methanol/5%ige Natriumchloridlösung = 6:4)

40

(2) 1-(4-Amidino-phenyl)-3-[4-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-phenyl]-imidazolidin-2,4-dion-hydrochlorid

Schmelzpunkt: über 260 °C

R_f-Wert: 0,19 (Kieselgel; Methylenchlorid/Methanol = 9:1)

45

Ber.:	C	57,62	H	5,08	N	13,44	Cl	8,50
Gef.:		56,94		5,03		13,33		8,99

(3) 2-(4-Amidino-phenyl)-5-[4-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-phenyl]-1,2,5-thiadiazolidin-1,1-dioxid-hydrochlorid

50

Schmelzpunkt: 245-248 °C (Zers.)

R_f-Wert: 0,44 (Reversed Phase Platte RP8; Methanol/10%ige Natriumchloridlösung = 6:4)

(4) 1-(4-Amidino-phenyl)-3-[4-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-phenyl]-4-methyl-imidazolin-2-on-hydrochlorid

Schmelzpunkt: 248 °C (Zers.)

R_f-Wert: 0,40 (Reversed Phase Platte RP8; Methanol/5%ige Natriumchloridlösung = 6:4)

55

(5) 2-(4-Amidino-phenyl)-4-[4-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-phenyl]-5-methyl-1,2,4-triazol-5-in-3-on-hydrochlorid

Schmelzpunkt: 272-274 °C

R_f-Wert: 0,37 (Reversed Phase Platte RP8; Methanol/5%ige Natriumchloridlösung = 6:4)

(6) 2-(4-Amidino-phenyl)-5-ethyl-4-[4-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-phenyl]-1,2,4-triazol-5-in-3-on-hydrochlorid

Schmelzpunkt: über 250 °C

R_F-Wert: 0,36 (Reversed Phase Platte RP8; Methanol/10%ige Natriumchloridlösung = 6:4)

Ber. x HCl:	C	58,67	H	5,63	N	16,29	Cl	8,25
Gef.:		58,01		5,65		16,26		9,14

(7) 2-(4-Amidino-phenyl)-4-[4-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-phenyl]-1,2,4-triazol-5-in-3-on-hydrochlorid
Schmelzpunkt: 275-277 °C

R_F-Wert: 0,55 (Reversed Phase Platte RP8; Methanol/5%ige Natriumchloridlösung = 6:4)

(8) 4-(4-Amidino-phenyl)-2-[4-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-phenyl]-1,2,4-triazol-5-in-3-on-hydrochlorid
Schmelzpunkt: 289-291 °C (Zers.)

R_F-Wert: 0,49 (Reversed Phase Platte RP8; Methanol/5%ige Natriumchloridlösung = 6:4)

Beispiel M

2-(4-Amidino-phenyl)-5-[(3-methoxycarbonyl-propyl)-aminocarbonyl]-1-methyl-benzimidazol-hydrochlorid

4,2 g 4-[4-[N-(4-Amidino-benzoyl)-methylamino]-3-nitro-benzoylamino]-buttersäure-methylester werden in 100 ml Methanol gelöst, mit 10 ml etherischer Salzsäure und 0,5 g 10%iger Palladiumkohle versetzt und bei Raumtemperatur mit Wasserstoff von 5 bar Druck 22 Stunden behandelt. Man setzt weitere 0,3 g des Katalysators zu und läßt eine weitere Stunde reagieren. Der Katalysator wird abfiltriert, das Filtrat eingedampft und der Rückstand mit einer Mischung aus 100 ml Essigester und 10 ml Methanol eine Stunde bei Raumtemperatur verrührt, wobei die Substanz in kristalliner Form anfällt.

Ausbeute: 3,7 g (100 % der Theorie),

Schmelzpunkt: über 200 °C

R_F-Wert: 0,65 (Reversed-Phase-Platte RP18; Methanol/5%ige wäßrige Natriumchloridlösung = 6:4)

Analog wird folgende Verbindung erhalten:

(1) 2-(4-Amidino-phenyl)-5-[(2-methoxycarbonyl-ethyl)-aminocarbonyl]-1-methyl-benzimidazol

R_F-Wert: 0,59 (Reversed-Phase-Platte RP18; Methanol/5%ige wäßrige Natriumchloridlösung = 6:4)

Beispiel N

2-[(4-Amidino-phenyl)-oxymethyl]-5(6)-methoxycarbonylmethoxy-benzimidazol-hydrochlorid

2,4 g 2-[(4-Cyan-phenyl)-oxymethyl]-5(6)-methoxycarbonylmethoxy-benzimidazol werden in 300 ml Methanol suspendiert. In die Mischung leitet man eine Stunde lang bei 0-10 °C Salzsäuregas ein und rührt 4 Stunden bei 15-20 °C nach. Das Methanol wird im Vakuum abgedampft, der Rückstand mit 75 ml Methanol versetzt und dieses wiederum im Vakuum abdestilliert. Der Rückstand wird in 300 ml Methanol suspendiert, wonach man unter Rühren portionsweise 16,3 g Ammoniumcarbonat zufügt und weitere 16 Stunden nachrührt. Die Reaktionsmischung wird mit einer Mischung aus 3 Teilen Methanol und einem Teil konzentrierter Salzsäure auf pH4 gebracht. Man dampft zur Trockene ein und reinigt den Rückstand über Kieselgel (Elutionsmittel: Methylenchlorid/Methanol = 3:1 bis 0:1).

Ausbeute: 0,9 g (32 % der Theorie),

Schmelzpunkt: 250 °C (Zers.)

R_F-Wert: 0,64 (Kieselgel; Methylenchlorid/Methanol/Eisessig = 3:1:0,1)

Ber. x H ₂ O x HCl:	C	52,87	H	5,18	N	13,70	Cl	8,67
Gef.:		53,07		5,02		13,81		8,80

Analog werden folgende Verbindungen erhalten:

(1) 2-(4-Amidino-phenyl)-1-[2-(3,4-dimethoxy-phenyl)-ethyl]-5-[(2-methoxycarbonyl-ethyl)-aminocarbonyl]-benzimidazol-hydrochlorid

R_F-Wert: 0,20 (Kieselgel; Essigester/Ethanol = 7:3)

(2) 2-(4-Amidino-phenyl)-5-[(2-methoxycarbonyl-ethyl)-aminocarbonyl]-1-(2-piperazino-ethyl)-benzimidazol
Schmelzpunkt: 80 °C (Zers.)

R_f-Wert: 0,14 (Kieselgel; Isopropanol/Wasser/konz. Ammoniak = 7:2:1, nach zweimaliger Entwicklung)

(3) 2-(4-Amidino-phenyl)-5-[(2-methoxycarbonyl-ethyl)-aminocarbonyl]-1-(3-thiomorpholino-propyl)-benzimidazol

R_f-Wert: 0,18 (Kieselgel; Methylenchlorid/Methanol/konz. Ammoniak = 8:2:0,1)

Herstellung der Endprodukte:

Beispiel 1

(3S,5S)-5-[(4'-Amidino-4-biphenyl)oxymethyl]-3-[(methoxycarbonyl)methyl]-2-pyrrolidinon-hydrochlorid[3-³H-4-biphenyl]

In einer geschlossenen Apparatur wird eine Lösung von 25 mg (3S,5S)-5-[(4'-Amidino-3-brom-4-biphenyl)oxymethyl]-3-[(methoxycarbonyl)methyl]-2-pyrrolidinon-hydrochlorid in 0,5 ml Dimethylformamid in Gegenwart von 10 mg eines Katalysators von 10 % Palladium auf Aktivkohle unter kräftigem Rühren mit 370 GBq trägerfreiem Tritiumgas behandelt. Nach 4 Stunden ist die Aufnahme von Tritium beendet. Die Reaktionslösung wird mit weiterem Dimethylformamid verdünnt, der Katalysator abfiltriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck bei 80 °C abgezogen. Bei diesem Schritt wird der Großteil des labilen Tritiums entfernt. Zur Entfernung des restlichen labilen Tritiums wird der Rückstand in 50 ml absolutem Ethanol aufgenommen, 3 Tage bei Raumtemperatur stehengelassen und dann bei 35 °C bei vermindertem Druck das Ethanol wieder vollständig abgezogen. Der Rückstand wird zur Lagerung in 50 ml absolutem Ethanol aufgenommen.

Radiochemische Ausbeute: 13,14 GBq (3,6 % der Theorie bezogen auf eingesetzte Tritium-Gesamtaktivität)

Radiochemische Reinheit: 98,8 % der Theorie

Bestimmungsmethode HPLC:

Säule	4 x 125 mm Kromasil 100, C 18, 5 µm
Fluß	1,5 ml/Minute
Fließmittel A	0,1 % KH ₂ PO ₄ , pH 2,5 (H ₃ PO ₄)
Fließmittel B	Methanol
Gradient	in 10 Minuten von 95 % A nach 65 % A, weiter 20 Minuten 65 % A

Beispiel 2

(3S,5S)-5-[(4'-Amidino-4-biphenyl)oxymethyl]-3-[(carboxyl)-methyl]-2-pyrrolidinon[3-³H-4-biphenyl]

Eine Lösung von 2,57 mg (1,577 GBq) (3S,5S)-5-[(4'-Amidino-4-biphenyl)oxymethyl]-3-[(methoxycarbonyl)-methyl]-2-pyrrolidinon-[3-³H-4-biphenyl] in 6 ml Ethanol wird bei vermindertem Druck bei 35 °C eingengt. Den Rückstand löst man in 300 µl Methanol und setzt 50 µl 2N Natronlauge zu (pH 12). Nach 12 Stunden bei Raumtemperatur wird erst mit 600 µl Wasser versetzt und dann Ammoniumchlorid bis zum pH 8 zugegeben. Anschließend werden nochmals 180 µl Wasser und 60 µl Methanol zugegeben und diese klare Lösung zur Reinigung auf RP-8 Dünnschicht-Fertigplatten (Fa. Merck; Fließmittel: 60 % Methanol/40 % 10%ige Kochsalzlösung) chromatographiert. Die im UV-Licht (254 und 366 nm) gut erkennbaren Bahnen mit der Titelverbindung werden unter den üblichen Vorsichtsmaßnahmen von den noch feuchten Platten abgekratzt, mit 4 ml Dimethylsulfoxid und 200 µl 1N Salzsäure gründlich ausgerührt. Die Suspension wird über ein Membranfilter, Porenweite 0,5 µm, filtriert. Man erhält 3,5 ml Lösung der [³H]-Titelverbindung.

Radiochemische Reinheit: 97,8 % der Theorie

Bestimmungsmethode HPLC:

Säule	4 x 125 mm Kromasil 100, C 18, 5 µm
Fluß	1,5 ml/Minute
Fließmittel A	0,1 % KH ₂ PO ₄ , pH 2,5 (H ₃ PO ₄)
Fließmittel B	Methanol
Gradient	in 10 Minuten von 95 % A nach 65 % A, weiter 20 Minuten 65 % A

Identität:

Durch HPLC im Vergleich mit inaktivem, analysenreinem Material nachgewiesen.

- 10 Gehaltsbestimmung (UV-spektrophotometrisch): 0,371 mg/ml
Aktivitätskonzentration (Flüssigscintillationsmethode): 258,5 MBq/ml
Spezifische Aktivität: 256 GBq/mMol = 0,697 MBq/mg
Chemische Ausbeute: 1,298 mg (57 % der Theorie)

15 Beispiel 3

(3S,5S)-5-[(4'-Amidino-4-biphenyl)oxymethyl]-3-[(carboxy)-methyl]-2-pyrrolidinon[3-³H-4-biphenyl]

20 Eine Lösung von 2,14 mg (3S,5S)-5-[(4'-Amidino-4-biphenyl)oxymethyl]-3-[(methoxycarbonyl)methyl]-2-pyrrolidinon-hydrochlorid[3-³H-4-biphenyl] in 5 ml Ethanol mit einer Gesamtradioaktivität von 1,314 GBq wird bei vermindertem Druck bei 35 °C eingeengt. Den Rückstand löst man in 350 µl Methanol und setzt 25 µl 2N Natronlauge zu (pH 12). Nach 12 Stunden bei Raumtemperatur werden die ausgefallenen Kristalle auf den Boden des Reaktionsgefäßes zentrifugiert und der klare Überstand abpipettiert. Der kristalline Rückstand wird 3 mal mit je 100 µl Methanol gewaschen, in 300 µl Dimethylsulfoxid und 40 µl 1N Salzsäure
25 gelöst und anschließend mit weiterem Dimethylsulfoxid auf ein Gesamtvolumen von 3 ml gebracht.

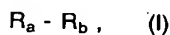
Radiochemische Ausbeute: 425 MBq (32 % der Theorie)

Chemische Ausbeute: 0,61 mg (32 % der Theorie)

Identität: Durch HPLC im Vergleich mit inaktivem, analysenreinem Material nachgewiesen.

30 Patentansprüche

1. Fibrinogen-Rezeptor-Antagonisten, die eine vergleichbare oder höhere Affinität gegenüber dem Rezeptor als ¹²⁵I-Fibrinogen aufweisen und in Gegenwart von Fremdprotein eine Affinität (K_D) von weniger als
35 500 nM gegenüber dem Rezeptor aufweisen, dadurch gekennzeichnet, daß diese Fibrinogen-Rezeptor-Antagonisten mindestens ein detektierbares Atom enthalten.
2. Fibrinogen-Rezeptor-Antagonisten gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß als detektierbares Atom Tritium anstelle von Wasserstoff verwendet wird.
- 40 3. Fibrinogen-Rezeptor-Antagonisten gemäß Anspruch 1 und 2, dadurch gekennzeichnet, daß mindestens ein Wasserstoffatom in einem Amidin der allgemeinen Formel



in der

R_a eine 4-Amidinophenyl- oder 5-Amidino-pyrimid-2-yl-Gruppe undR_b eine HOOC-D-C-B-A-Gruppe bedeuten, in der

50 A eine gegebenenfalls durch eine Methoxygruppe substituierte Phenylengruppe, in der zusätzlich eine oder zwei Methingruppen jeweils durch ein Stickstoffatom ersetzt sein können, eine gegebenenfalls an einem Kohlenstoffatom durch eine Methyl-, Ethyl- oder Trifluormethylgruppe substituierte Imidazolinon-di-yl-, Imidazolidinon-di-yl-, Imidazolidin-dion-di-yl-, Triazolinon-di-yl- oder 1,1-Dioxo-1,2,5-thiadiazolidin-di-yl-gruppe, eine gegebenenfalls an einem der Stickstoffatome durch den Rest R₁ substituierte Benzimidazol-di-yl-gruppe oder eine mit dem Stickstoffatom an den Rest B gebundene Aminocarbonylgruppe,

55 B eine Methylen-, Carbonyl-, Cyclohexylen-, Phenyl- oder Imidazol-di-yl-gruppe, eine über das Stickstoffatom an den Rest C gebundene Aminocarbonylgruppe, welche gleichzeitig am Stickstoffatom durch eine Methylgruppe substituiert sein kann, oder eine über das Sauerstoffatom an den

Rest A gebundene Methylenoxygruppe,

C eine gegebenenfalls durch den Rest R₂ substituierte Ethylengruppe, eine Cyclohexylengruppe, eine gegebenenfalls am Stickstoffatom durch den Rest R₃ substituierte Pyrrolidin-di-yl- oder Pyrrolidinon-di-yl-gruppe, eine Piperidin-di-yl-gruppe oder eine mit dem Stickstoffatom an den Rest D gebundene Aminocarbonylgruppe und

D eine Bindung, eine Methylen- oder Ethylengruppe darstellen, wobei

R₁ eine Methyl-, 2-Piperazinoethyl-, 2-(3,4-Dimethoxyphenyl)ethyl- oder 3-Thiomorpholinopropylgruppe,

R₂ eine Amino- oder Hydroxygruppe und

R₃ eine 3-Phenylpropyl-, Acetyl-, Methansulfonyl- oder Pyrrolidinocarbonylmethylgruppe darstellen, durch Tritium ersetzt ist, deren Tautomere, deren Stereoisomere einschließlich deren Gemische und deren Salze.

4. Fibrinogen-Rezeptor-Antagonisten der allgemeinen Formel I gemäß Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, daß mindestens ein Wasserstoffatom in einem Fibrinogen-Rezeptor-Antagonisten der allgemeinen Formel I, in dem

R_a eine 4-Amidino-phenylgruppe oder auch, wenn R_b eine in 4-Stellung durch eine 3-Carboxymethylpyrrolidin-2-on-5-yl-methyloxygruppe substituierte Phenylgruppe darstellt, eine 5-Amidino-pyrimid-2-yl-Gruppe und

R_b eine Phenylgruppe, die in 4-Stellung durch eine 4-Carboxymethyl-pyrrolidin-2-yl-methyloxy-, 3-Carboxymethyl-pyrrolidin-2-on-5-yl-methyloxy-, 4-Carboxymethyl-piperidinomethyl-, 4-Carboxymethyl-piperidinocarbonyl-, 4-Carboxycyclohexylaminocarbonyl- oder N-Methyl-N-(4-carboxycyclohexyl)-aminocarbonylgruppe substituiert ist, wobei jeweils in 1-Stellung der Pyrrolidinteil durch eine Acetyl- oder Methansulfonylgruppe und der Pyrrolidinonteil durch eine 3-Phenylpropyl- oder Pyrrolidinocarbonylmethylgruppe substituiert sein kann,

eine 4-Methoxy-phenylgruppe, die in 3-Stellung durch eine 4-Carboxycyclohexyl-aminocarbonylgruppe substituiert ist,

eine in 6-Stellung durch eine Imidazol-1-yl-Gruppe substituierte Pyridazin-3-yl-Gruppe, wobei der Imidazolylteil in 4-Stellung durch eine 2-Amino-2-carboxy-ethyl- oder 2-Carboxy-2-hydroxy-ethylgruppe substituiert ist,

eine Imidazolidin-2-on-1-yl-Gruppe, die in 3-Stellung durch eine 4-(2-Carboxyethyl)-cyclohexyl- oder 4-(2-Carboxyethyl)-phenylgruppe substituiert ist,

eine 4-Methyl-4-imidazolin-2-on-1-yl- oder Imidazolidin-2,4-dion-1-yl-Gruppe, die in 3-Stellung durch eine 4-(2-Carboxyethyl)-phenyl-Gruppe substituiert ist,

eine gegebenenfalls in 5-Stellung durch eine Methyl- oder Ethylgruppe substituierte 1,2,4-Triazol-5-in-3-on-2-yl-Gruppe, die in 4-Stellung durch eine 4-(2-Carboxyethyl)-phenylgruppe substituiert ist,

eine 1,2,4-Triazol-5-in-3-on-4-yl-Gruppe, die in 2-Stellung durch eine 4-(2-Carboxyethyl)-phenyl-Gruppe substituiert ist,

eine in 5-Stellung durch eine 4-(2-Carboxyethyl)-phenylgruppe substituierte 1,1-Dioxo-1,2,5-thiadiazolidin-2-yl-Gruppe,

eine gegebenenfalls in 1-Stellung durch eine Methyl-, 2-Piperazino-ethyl- oder 2-(3,4-Dimethoxyphenyl)-ethylgruppe substituierte Benzimidazol-2-yl-Gruppe, die in 5-Stellung durch eine 2-Carboxyethylaminocarbonylgruppe substituiert ist, oder

eine Phenylaminocarbonylgruppe, die in 3-Stellung durch eine 2-Carboxyethylaminocarbonylgruppe substituiert ist, bedeuten,

durch Tritium ersetzt ist, deren Tautomere, deren Stereoisomere einschließlich deren Gemische und deren Salze.

5. Folgende Fibrinogen-Rezeptor-Antagonisten gemäß Anspruch 3 oder 4:

(1) (3S,5S)- und (3R,5R)-5-[(4-(5-Amidinopyrimid-2-yl)-phenyl)-oxymethyl]-3-carboxymethylpyrrolidin-2-on,

(2) (3S,5S)- und (3R,5R)-1-Acetyl-5-[(4'-amidino-4-biphenyl-yl)-oxymethyl]-3-carboxymethyl-pyrrolidin,

(3) (3S,5S)- und (3R,5R)-5-[(4'-Amidino-4-biphenyl)-oxymethyl]-3-carboxymethyl-1-methansulfonylpyrrolidin,

(4) (3S,5S)- und (3R,5R)-5-[(4'-Amidino-4-biphenyl)-oxymethyl]-3-carboxymethyl-pyrrolidin-2-on,

(5) 4-Amidino-4'-[(trans-4-carboxycyclohexyl)-aminocarbonyl]-biphenyl,

(6) 4-Amidino-4'-[N-(trans-4-carboxycyclohexyl)-N-methylaminocarbonyl]-biphenyl,

(7) 1-(4-Amidinophenyl)-3-[4-(2-carboxyethyl)-phenyl]-imidazolidin-2,4-dion,
 (8) 1-(4-Amidinophenyl)-3-[4-(2-carboxyethyl)-phenyl]-4-methyl-4-imidazolin-2-on,
 (9) 2-(4-Amidinophenyl)-4-[4-(2-carboxyethyl)-phenyl]-1,2,4-triazol-5-in-3-on,
 (10) 4-(4-Amidinophenyl)-2-[4-(2-carboxyethyl)-phenyl]-1,2,4-triazol-5-in-3-on,
 (11) 2-(4-Amidinophenyl)-4-[4-(2-carboxyethyl)-phenyl]-5-methyl-1,2,4-triazol-5-in-3-on,
 (12) 2-(4-Amidinophenyl)-4-[4-(2-carboxyethyl)-phenyl]-5-ethyl-1,2,4-triazol-5-in-3-on,
 (13) 2-(4-Amidinophenyl)-5-[4-(2-carboxyethyl)-phenyl]-1,2,5-thiadiazolidin-1,1-dioxid,
 (14) 1-(4-Amidinophenyl)-3-[4-(2-carboxyethyl)-cyclohexyl]-imidazolidin-2-on,
 (15) 2-(4-Amidinophenyl)-5-[(2-carboxyethyl)-aminocarbonyl]-1-[2-(piperazin-1-yl)-ethyl]-benzimidazol,
 (16) 4-Amidino-4'-[4-(carboxymethyl)-piperidinocarbonyl]-biphenyl und deren Salze.

6. Folgende Fibrinogen-Rezeptor-Antagonisten der allgemeinen Formel I gemäß Anspruch 3 oder 4:

- (1) (3S,5S)- und (3R,5R)-5-[[[4-(5-Amidinopyrimid-2-yl)-phenyl]-oxymethyl]-3-carboxymethyl-pyrrolidin-2-on,
- (2) (3S,5S)- und (3R,5R)-1-Acetyl-5-[(4'-amidino-4-biphenyl-yl)-oxymethyl]-3-carboxymethyl-pyrrolidin,
- (3) (3S,5S)- und (3R,5R)-5-[(4'-Amidino-4-biphenyl-yl)-oxymethyl]-3-carboxymethyl-1-methansulfonyl-pyrrolidin,
- (4) (3S,5S)- und (3R,5R)-5-[(4'-Amidino-4-biphenyl-yl)-oxymethyl]-3-carboxymethyl-pyrrolidin-2-on,
- (5) 4-Amidino-4'-[4-(carboxymethyl)-piperidinocarbonyl]-biphenyl und deren Salze.

7. Fibrinogen-Rezeptor-Antagonisten der allgemeinen Formel I gemäß den Ansprüchen 3 bis 6, dadurch gekennzeichnet, daß ein aromatisches Wasserstoffatom durch Tritium ersetzt ist.

8. (3S,5S)-5-[(4'-Amidino-4-biphenyl-yl)oxymethyl]-3-[(carboxy)methyl]-2-pyrrolidinon[3-³H-4-biphenyl-yl] und dessen Salze.

9. Verwendung der markierten Fibrinogen-Rezeptor-Antagonisten gemäß den Ansprüchen 1 bis 8 zur Bestimmung der Bindung von chemischen Substanzen an Fibrinogen-Rezeptoren.

10. Verwendung der markierten Fibrinogen-Rezeptor-Antagonisten gemäß den Ansprüchen 1 bis 8 zur Konzentrationsbestimmung von Fibrinogen-Rezeptor-Antagonisten.

11. Verwendung der markierten Fibrinogen-Rezeptor-Antagonisten gemäß den Ansprüchen 9 oder 10, dadurch gekennzeichnet, daß die Bestimmung in Gegenwart von Fremdeiweiß und/oder von Körperflüssigkeiten durchgeführt wird.

12. Verfahren zur Herstellung der mit Tritium markierten Fibrinogen-Rezeptor-Antagonisten gemäß den Ansprüchen 2 bis 8, dadurch gekennzeichnet, daß in einem entsprechenden nichtmarkierten Fibrinogen-Rezeptor-Antagonisten

- a) durch katalytische Tritiierung einer ungesättigten Kohlenstoff-Kohlenstoff-Bindung,
 - b) durch hydrogenolytischen Austausch eines Halogenatoms,
 - c) durch katalytischen Wasserstoff/Tritiumaustausch,
 - d) durch katalytischen Wasserstoff/Tritiumaustausch in tritierten Lösungsmitteln oder
 - e) durch Tritiierung einer Vorstufe des herzustellenden Fibrinogen-Rezeptor-Antagonisten und anschließende Synthese des Fibrinogen-Rezeptor-Antagonisten
- mindestens ein Tritiumatom anstatt von Wasserstoff eingeführt wird und gewünschtenfalls anschließend ein so erhaltenes Isomerengemisch in seine Enantiomere aufgetrennt wird und/oder eine so erhaltene tritierte Verbindung in ihr Salz übergeführt wird.

Abbildung I

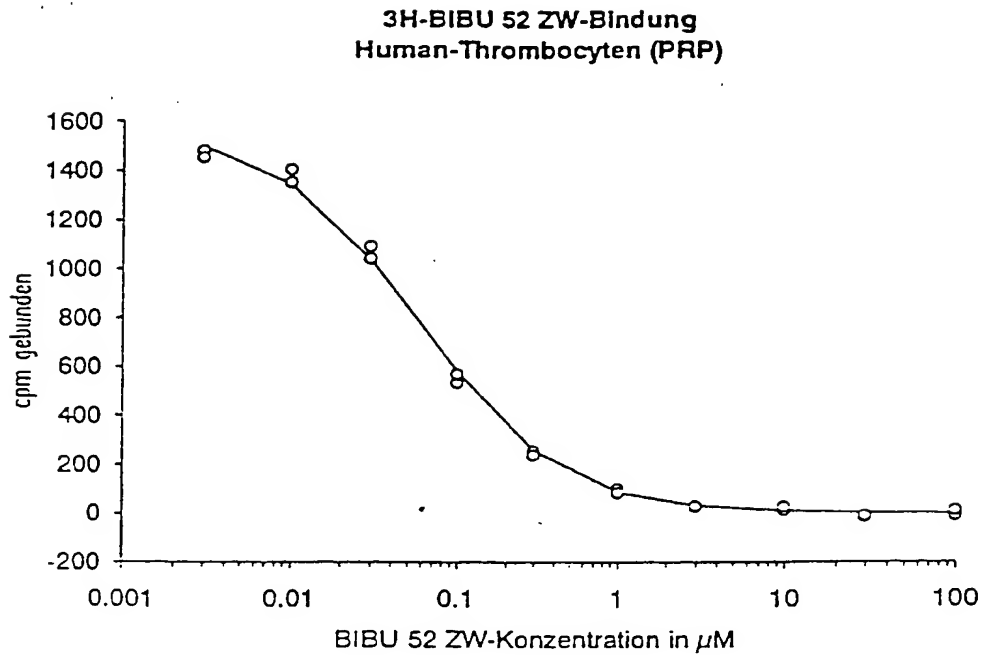


Abbildung 1. Verdrängung der Bindung von ³H-BIBU 52 an Humanthrombozyten in Gegenwart von Plasma durch BIBU 52

Gesamtaktivität gebunden:	1576 cpm
Unspezifische Bindung:	0 cpm
Dissoziationskonstante:	58 nM
Bindungsstellen:	67400 / Zelle



Europäisches
Patentamt

EUROPÄISCHER TEILRECHERCHENBERICHT

Nummer der Anmeldung

der nach Regel 45 des Europäischen Patent-
übereinkommens für das weitere Verfahren als
europäischer Recherchenbericht gilt

EP 93 10 6725

EINSCHLÄGIGE DOKUMENTE

Kategorie	Kennzeichnung des Dokuments mit Angabe, soweit erforderlich der maßgeblichen Teile	Betrifft Anspruch	KLASSIFIKATION DER ANMELDUNG (Int. Cl. 5)
P,D, X	EP-A-0 496 378 (DR. KARL THOMAE GMBH) 29. Juli 1992 * Seite 12, Zeile 32 - Zeile 47; Anspruch 1 *	3-8	C07D401/12 A61K31/395 C07D207/263 C07D207/08 C07D233/72 C07D233/32 C07D249/12 C07D285/10 C07D403/06 C07D211/34 C07C257/18
D,P, X	EP-A-0 483 667 (DR KARL THOMAE GMBH) 6. Mai 1992 * Seite 23, Zeile 17; Anspruch 1 *	3-8	
D,P, X	EP-A-0 528 369 (DR KARL THOMAE GMBH) 24. Februar 1993 * Seite 20, Zeile 48; Anspruch 1 *	3-8	
A,D	EP-A-0 381 033 (F.HOFFMANN-LA ROCHE AG) 8. August 1993 * Seite 5, Zeile 23; Anspruch 1 *	3-8	
P,X	J.MED.CHEM. 4. Mai 1992, Seiten 4393 - 4407 ALIG ET AL 'Low Molecular Weight, Non-Peptide Fibrinogen Receptor Antagonists'	3-8	
			RECHERCHIERTE SACHGEBIETE (Int. Cl. 5)
			C07D A61K C07C

UNVOLLSTÄNDIGE RECHERCHE

Nach Auffassung der Recherchenabteilung entspricht die vorliegende europäische Patentanmeldung den Vorschriften des Europäischen patentübereinkommens so wenig, daß es nicht möglich ist, auf der Grundlage einiger Patentansprüche sinnvolle Ermittlungen über den Stand der Technik durchzuführen.

Vollständig recherchierte Patentansprüche:
Unvollständig recherchierte Patentansprüche:
Nicht recherchierte Patentansprüche:
Grund für die Beschränkung der Recherche:

Siehe Ergänzungsblatt C

Recherchenort
MUENCHEN

Abschlußdatum der Recherche
18 AUGUST 1993

Prüfer
GETTINS M.P.

KATEGORIE DER GENANNTEN DOKUMENTEN

X : von besonderer Bedeutung allein betrachtet
Y : von besonderer Bedeutung in Verbindung mit einer
anderen Veröffentlichung derselben Kategorie
A : technologischer Hintergrund
O : nichtschriftliche Offenbarung
P : Zwischenliteratur

T : der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundsätze
E : älteres Patentdokument, das jedoch erst am oder
nach dem Anmeldedatum veröffentlicht worden ist
D : in der Anmeldung angeführtes Dokument
L : aus anderen Gründen angeführtes Dokument

Δ : Mitglied der gleichen Patentfamilie, übereinstimmendes
Dokument

EPO FORM 1503 (01.92) (P04EDR)



EP 93 10 6725

-C-

UNVOLLSTÄNDIGE RECHERCHE

Vollständig recherchierte Patentansprüche: -3-12'

Nicht recherchierte Patentansprüche: 1-2

Da die Anspruchsbreite der Ansprüche 1 und 2 aufgrund des unklaren und unbegrenzten Definitionen derart gross ist, war eine sinnvolle Recherche nur auf der Grundlage der Ansprüchen 3-12 durchführbar.

THIS PAGE BLANK (USPTO)